

CN 1397794A

A method for detecting infrared spectra of organism tissues and a dedicated apparatus thereof

The invention provides a method for detecting infrared spectra of organism tissues by using Fourier transformation mid-infrared spectrum detecting apparatus and a dedicated apparatus thereof. The detecting apparatus is a Fourier transformation mid-infrared apparatus, and comprises an electric system, an interferometer, a detector, a sample means, an infrared light source and rotatable mirrors, wherein the infrared radiation wavelength range of the infrared light source is $2.5\ \mu\text{m}$ - $25\ \mu\text{m}$; the interferometer is a refractive scanning interferometer; the detector is made up of DTGS or MCT detector with detection band of $2.5\ \mu\text{m}$ - $25\ \mu\text{m}$; the sample means including three exchangeable means: a horizontal ATR table, a fiber ATR table and an emitting fiber probe means. It only takes 3-5 minutes to obtain molecule-level information of organism tissues by using the method and the apparatus of the invention, and this provides important reference information to determine whether the tissue has pathologic changes or not and the degree of the aberrance by comparing with infrared spectrum information of normal tissues.

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

G01N 21/35

G01J 3/42



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02129410.0

[43] 公开日 2003 年 2 月 19 日

[11] 公开号 CN 1397794A

[22] 申请日 2002.8.21 [21] 申请号 02129410.0

[71] 申请人 北京大学

地址 100871 北京市海淀区颐和园路 5 号

共同申请人 北京第二光学仪器厂

[72] 发明人 吴瑾光 翁诗甫 徐怡庄 杨丽敏

张 莉 杨展澜 李维红 徐端夫

赵 莹 武惠忠 石景森 任 予

周孝思 张元福 徐 智

[74] 专利代理机构 北京华一君联专利事务所

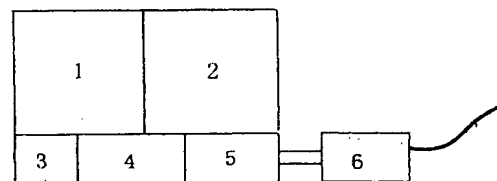
代理人 余长江

权利要求书 2 页 说明书 7 页 附图 11 页

[54] 发明名称 一种检测生物体组织红外光谱的方法及其专用装置

[57] 摘要

本发明提供了一种采用傅立叶变换中红外光谱检测装置检测生物体组织红外光谱的方法及其专用装置。检测装置是傅立叶变换中红外光谱装置,包括电器系统、干涉仪、检测器、试样装置、红外光源和转镜,红外光源的红外光辐射波长范围为 $2.5\mu\text{m}\sim 25\mu\text{m}$;干涉仪为折射扫描干涉仪;检测器由检测波段为 $2.5\mu\text{m}\sim 25\mu\text{m}$ 的 DTGS 或 MCT 检测器构成;试样装置有三个可互换的装置:水平 ATR 平台、光纤 ATR 平台、发射光纤探头装置。采用本发明的方法和装置,3~5 分钟即可获得生物体组织分子水平的信息,通过与正常组织的红外光谱信息进行比较,为鉴定组织是否发生变异、变异程度提供重要的参考信息。



1. 一种检测生物体组织红外光谱的方法, 其特征在于是采用傅立叶变换中红外光谱检测装置对离体或者活体的生物体组织进行检测。

2. 实现权利要求 1 所述方法的红外光谱装置, 是一种傅立叶变换中红外光谱检测装置, 包括电器系统, 干涉仪, 检测器, 试样装置, 红外光源和转镜, 其特征在于:

所述红外光源的红外光幅射波长范围为 $2.5\mu\text{m}\sim 25\mu\text{m}$;

所述的干涉仪为折射扫描干涉仪, 其中反射镜均为空心直角反射镜, 分束镜是楔形镜, 所有光学件均固定在同一个五面体铸件中, 同时干涉仪是密封的;

所述检测器由检测波段 $2.5\mu\text{m}\sim 25\mu\text{m}$ 的 DTGS 或 MCT 检测器构成;

所述试样装置为水平 ATR 平台, 所用的采样晶体由 $(20\sim 40)\times 20\times 2\text{mm}^3$ 的高折射率的 Ge、ZnSe 或 KRS-5 晶体构成; 传送光幅射的反射镜由平面镜、球面镜、抛物镜或椭球镜构成; 进、出光反射镜为非球面镜, 其光斑直径在 2 mm 以下。

3. 如权利要求 2 所述的红外光谱装置, 其特征在于所述试样装置上安装有给检测试样加压的装置。

4. 实现权利要求 1 所述方法的红外光谱装置, 是一种傅立叶变换中红外光谱检测装置, 包括电器系统, 干涉仪, 检测器, 试样装置, 红外光源和转镜, 其特征在于:

所述红外光源的红外光幅射波长范围为 $2.5\mu\text{m}\sim 25\mu\text{m}$;

所述的干涉仪为折射扫描干涉仪, 其中反射镜均为空心直角反射镜, 分束镜是楔形镜, 所有光学件均固定在同一个五面体铸件中, 同时干涉仪是密封的;

所述检测器由检测波段 $2.5\mu\text{m}\sim 25\mu\text{m}$ 的 DTGS 或 MCT 检测器构成;

所述试样装置为光纤 ATR 平台: 采用中红外光纤 ATR 组织试样采集探头, 晶体探头为由 $30\sim 75^\circ$ 的 Ge、ZnSe 或 KRS-5 材料构成的圆锥体或角体, 有两个取样点; 光纤为中空的中红外光纤, 内径为 $1\text{mm}\sim 5\text{mm}$, 光纤内壁涂有金或者金属卤化物或者金属硫化物, 光纤的通光范围为 $2.5\mu\text{m}\sim 25\mu\text{m}$; 光纤接口为用高透过率中红外材料制成的球形聚光镜和扩束镜或平面镜; 光纤与光学系统

间的耦合件由 BaF₂、CaF₂、ZnSe 或 KRS-5 材料制成。

5. 实现权利要求 1 所述方法的红外光谱装置，是一种傅立叶变换中红外光谱检测装置，包括电器系统，干涉仪，检测器，试样装置，红外光源和转镜，其特征在于：

所述红外光源的红外光幅射波长范围为 2.5μm~25μm；

所述的干涉仪为折射扫描干涉仪，其中反射镜均为空心直角反射镜，分束镜是楔形镜，所有光学件均固定在同一个五面体铸件中，同时干涉仪是密封的；

所述检测器由检测波段 2.5μm~25μm 的 DTGS 或 MCT 检测器构成；

所述试样装置为发射光纤探头装置：采集组织试样发射信息的探头由光纤探头和黑体辐射源组成，光纤为直径 1 mm~5mm 的中空的中红外光纤，内壁镀有金或者金属卤化物或者金属硫化物，光纤的通光范围为 2.5μm~25μm；光纤探头和光纤接口分别为用中红外高透过率的材料 BaF₂、CaF₂ 或 ZnSe 制成的聚光镜和扩束镜或平面镜；黑体辐射源为用黑体材料制成，用恒定电流控制其温度的装置。

一种检测生物体组织红外光谱的方法及其专用装置

技术领域：

本发明涉及一种检测生物体组织的红外光谱的方法及其专用装置，属于红外光谱测定及装置技术领域。

背景技术：

红外光谱法是研究分子结构变化的重要手段之一，红外光谱是研究分子结构变化的灵敏探针，因此，检测生物体组织的红外光谱，可以在早期发现生物体组织的变化信息，发现其在分子水平的变化情况。从理论上讲，这种研究生物体组织分子水平的变化情况的方法，可发展为一种早期诊断的方法。

譬如，癌症是威胁人类健康的一大疾病，而癌症的治愈很大程度决定于早期诊断。癌症的发展过程可概括为：在细胞癌变前，首先是相应的生物分子如核酸、蛋白、磷脂、脂肪、糖及粘蛋白等，其组成、结构、构型和构象等发生变化，进而发展成为癌细胞和肿瘤组织等。一般癌症检测方法，如 X-光，CT 和 MRI 都需要在癌细胞发展成肿瘤实体，具有可观测的尺寸大小才能以影像方式看到；而一般常用的病理活检也需要将癌变组织冰冻切片，染色后在显微镜下观察。这一过程至少需要半小时，在手术过程中往往需要等待活检结果出来以后，才能确定具体的后继手术方案。

用红外光谱检测癌细胞，国际上最早是 1986 年 Benedeth 的报道(Applied Spectroscopy, 1986, 40, 39)，以后陆续有很多报道。一般测定需经过匀浆提取等过程之后进行测定，这不仅需要较长时间，而且破坏样品；同时，现有的光谱装置体积较大，价格昂贵，移动后调试费时费力，不易普及应用。

发明内容：

本发明的目的是提供一种检测生物体组织红外光谱的方法。

本发明的另一目的是提供实现所述方法的测定装置，该装置体积小、稳定性

好、光通量高、测定精确，并可经长途搬运、稍加调试即可正常使用。

本发明的检测生物体组织红外光谱的方法是：采用傅立叶变换中红外光谱检测装置进行检测。

按照离体与活体的生物组织分为两种方式：

一、离体生物组织的红外光谱检测：

1. 通过外科手术、组织活检获得待测的离体生物组织样品；
2. 以标记或描述的方式指定待测的区域、部位；
3. 将样品置于傅立叶变换中红外光谱检测装置的试样装置上；
4. 控制条件，检测器采集红外光谱信息；
5. 显示或打印该生物组织样品的红外光谱检测结果。

二、活体（在体）生物组织的红外光谱检测：

1. 借助各种内窥镜（胃镜、十二指肠镜、结肠镜、鼻咽镜、支气管镜、膀胱镜、宫腔镜）、腔镜（腹腔镜、胸腔镜、关节腔镜）或在手术过程中暴露术野，选择待测生物组织部位；

2. 将傅立叶变换中红外光谱检测装置中的试样装置的 ATR 光纤探头或发射光纤探头置于待检测部位；

3. 控制条件，检测器采集红外光谱信息；
4. 显示或打印该生物组织样品的红外光谱检测结果。

实现上述方法的红外光谱装置，是一种傅立叶变换中红外光谱检测装置，其组成如图 1 所示，包括：电器系统 1，干涉仪 2，检测器 3，试样装置 4，红外光源和转镜 5。红外光源的红外光辐射波长范围为 $2.5\mu\text{m}\sim 25\mu\text{m}$ ，检测器的波段为 $2.5\mu\text{m}\sim 25\mu\text{m}$ 。其中的电器系统包括电源和各种器件的控制电路和 FFT 电路是常规的系统，而所述的：

A. 干涉仪：采用折射扫描干涉仪，其中反射镜均为空心直角反射镜，分束镜是楔形镜，所有光学件均固定在同一个五面体铸件中，从而提高仪器的稳定性；同时干涉仪又是密封的，使干涉仪内部与外界不产生空气交换，进一步保证稳定性和避免空气中各种物质对光谱的干扰影响。具有高稳定性、高光通量、小体积的优点。

B. 检测器由检测波段 $2.5\mu\text{m}\sim 25\mu\text{m}$ 的 DTGS（氘代硫酸三甘肽）或 MCT（碲镉汞）检测器构成。

C. 试样装置：有下述三个可互换的装置

1. 水平 ATR 平台：如图 2 所示，为衰减全反射（ATR）组织试样信息采集平台，所用的采样晶体 7 由 $(20\sim40)\times 20\times 2\text{mm}^3$ 的高折射率的 Ge、ZnSe 或 KRS-5 晶体构成。传送光幅射的反射镜 9 由平面镜、球面镜、抛物镜或椭球镜构成；进、出光反射镜为非球面镜，其光斑直径在 2 mm 以下。试样可直接放在水平 ATR 平台上；该平台上还可以备有给试样加压的装置如压力板 11，以提高检测光谱信噪比。

2. 光纤 ATR 平台：如图 3 所示，采用中红外光纤 ATR 组织试样采集探头，晶体探头 12 为由 $30\sim75^\circ$ 的 Ge、ZnSe 或 KRS-5 材料构成的圆锥体或角体，有两个取样点，以提高信号强度；光纤 13 为中空的中红外光纤，内径为 1mm~5mm，光纤内壁涂有金、金属卤化物（如 AgCl）、金属硫化物（如金属硫化镉）等物质，光纤的通光范围为 $2.5\mu\text{m}\sim 25\mu\text{m}$ ；光纤接口 14 为用高透过率中红外材料制成的球形聚光镜和扩束镜或平面镜；光纤与光学系统间的耦合件由 BaF_2 、 CaF_2 、ZnSe 或 KRS-5 等材料制成。

3. 发射光纤探头装置：如图 4 所示，采集组织试样发射信息的探头由光纤探头和黑体辐射源组成。中红外光纤 18 为中空的，直径 1~5mm，内壁镀有金、金属卤化物、金属硫化物等物质，通光范围为 $2.5\mu\text{m}\sim 25\mu\text{m}$ ；光纤探头 17 和光纤接口 19 分别为用中红外高透过率的材料 BaF_2 、 CaF_2 或 ZnSe 制成的聚光镜和扩束镜或平面镜。黑体辐射源 22 为用石墨等黑体材料制成，用恒定电流控制其温度的装置。

采用本发明的检测生物体组织红外光谱的方法和装置，对于离体组织如手术取下的组织，可以直接测定，3~5 分钟即可获得生物体组织分子水平的信息，通过与正常组织的红外光谱信息进行比较，为鉴定生物体组织是否发生变异、变异程度提供重要的参考信息。如对人体的正常组织，癌变组织，以及癌旁组织分别在波段 $2.5\mu\text{m}\sim 25\mu\text{m}$ 范围内进行扫描检测并作比较，可以为确定组织是否异常或其变异程度提供重要的参考信息。

采用中红外光纤 ATR 组织试样采集探头时，还可用于生物体组织的原位测定，可能发展成在手术过程中对组织进行直接原位测定的方法。这种直接测定组织红外光谱的方法，既节省测量时间，也免除一切破坏组织的切片染色等步骤，在临床上可减轻病人痛苦，缩短检测时间。

利用本发明的检测方法和检测装置,可以快速获得生物体组织分子水平的变异与否和变异程度,这在生物医学中有广泛的用途,特别是在医疗临床手术中,能快速提供可靠的参考信息。任何离体组织皆可在该本发明的装置的信息采集平台上或利用该装置中的信息采集探头与组织接触进行扫描检测,扫描范围 $400\text{--}4000\text{cm}^{-1}$,记录下所测得的红外光谱。如需原位检测,可将中红外光纤的 ATR 探头置于待测组织的部位,然后进行扫描测定,记录下所测得的红外光谱,将数据储存备用。

本发明的进一步发展:可以将所获得的患者组织的红外光谱信息(包括峰位、强度、峰宽、谱峰强度等),与患者病历中的基本数据包括年龄、组织部位、诊断结果、发展阶段等,编成数据库;将所检测得到的各种肿瘤和正常组织的光谱特征结合统计分析结果写成专用软件,在测定新样品组织光谱后输入到软件系统,根据统计分析的结果,进行光谱特征比较,可以为确定组织正常或癌变提供重要的参考。采用本发明的方法和装置,发明人已经对人的口腔、食道、胃、肠、胆囊、肺、肝、肾、甲状腺、卵巢、淋巴结和皮肤等的离体肿瘤组织进行了检测并记录了其光谱图,建立了相应的数据库。

本发明的优点及积极效果:

1. 本发明的从分子水平检测生物体光谱的方法,可以得到生物体组织的准确度较高的信息。根据所检测的红外光谱,比较正常组织和变异组织的光谱区别,可以为生物体组织的病变提供早期诊断参考。根据发明人对数百个样品的检测所得的上千张光谱的统计分析,早期诊断准确度可达到 85%以上。对于一些疑难病变,采用活体切片镜检难以作出结论的,可以根据所检测到的光谱变化获得重要的参靠信息。

2. 本发明的红外光谱装置,体积小、稳定性好、光通量高、测定精确,可以放置在可移动的工作台上移动到手术台旁进行检测。

3. 利用本发明的红外光谱装置,可以进行原位检测或进行离体组织的检测。

4. 利用本发明的方法和装置,检测速度快,只需 3~5 分钟即可获得生物体组织的光谱信息,比起活检切片法节省很多时间。

5. 本发明的方法和装置,与内窥镜结合,可以发展成为癌症早期诊断方法。

附图说明:

图 1 为本发明的红外光谱装置的方框图，图中：

1—电器系统，2—干涉仪，3—检测器，4—水平 ATR 平台，5—转镜，6—光纤 ATR 平台。

图 2 (a) 为水平 ATR 平台结构示意图，图 2 (b) 为水平 ATR 平台沿图 2 (a) 中 A-A' 方向俯视图，图中：

7—采样晶体，8—晶体托板，9—反射镜，10—支架，11—压力板。

图 3 (a) 为光纤 ATR 平台结构示意图，图 3 (b) 为光纤 ATR 平台中光纤探头结构示意图，图中：

12—晶体探头，13—光纤，14—光纤接口，15—ATR 平台，16—光纤探台

图 4 为发射光纤探头装置结构示意图，(a) 为发射光纤探头结构示意图，(b) 为发射光纤探头接口转接和黑体辐射源示意图，图中：

17—光纤探头，18—光纤，19—光纤接口，20—光纤接口孔，21—光源转镜，22—黑体辐射源，23—光纤探头插孔。

图 5 为良性乳腺肿瘤的红外光谱。

图 6 为口腔组织的红外光谱，a 为正常组织，b 为恶性肿瘤组织。

图 7 (a) 为直肠正常组织的红外光谱，图 7 (b) 为直肠癌组织的红外光谱。

图 8 为甲状腺组织的红外光谱，a 为正常组织，b 为甲状腺肿瘤组织。

图 9 为食道组织的红外光谱，a 为正常组织，b 为食道癌组织。

图 10 为肺组织的红外光谱，a 为正常组织，b 为肺癌组织。

具体实施方式：

实例 1

如图 1 和图 2 所示，本发明的红外光谱装置，是一种傅立叶变换中红外光谱检测装置，包括：电器系统 1，干涉仪 2，检测器 3，试样装置 4，红外光源和转镜 5。红外光源的红外光幅射波长范围为 $2.5\mu\text{m}\sim 25\mu\text{m}$ ，检测器的波段为 $2.5\mu\text{m}\sim 25\mu\text{m}$ 。其中的电器系统包括电源和各种器件的控制电路和 FFT 电路是常规的系统。

干涉仪 2 采用折射扫描干涉仪，其中反射镜均为空心直角反射镜，分束镜是楔形镜，所有光学件均固定在同一个五面体铸件中，从而提高仪器的稳定性；同时干涉仪又是密封的，使干涉仪内部与外界不产生空气交换，进一步保证稳定性和避免空气中各种物质对光谱的干扰影响。检测器由检测波段 $2.5\mu\text{m}\sim 25\mu\text{m}$ 的 DTGS（氘代硫酸三甘肽）或 MCT（碲镉汞）检测器构成。如图 2 所示，试样装置为水平 ATR 平台，所用的采样晶体 7 由 $30\times 20\times 2\text{mm}^3$ 的高折射率的 Ge 晶体构成。传送光幅射的反射镜 9 由平面镜构成；进、出光反射镜为非球面镜，其光斑直径在 2 mm 以下。试样组织可直接放在水平 ATR 平台上；该平台上还可以备有给试样加压的压力板 11，以提高检测光谱信噪比。

采用上述装置，将在医院手术后的离体乳腺肿块样品置于 ATR 平台，样品的组织外观颇似癌变，在做冰冻切片活检之前，该组织进行中红外光谱检测，所得的光谱如图 5 所示，测定全过程约需要 3 分钟。将该光谱与正常组织的红外光谱进行对比，其光谱特征相似，初步判断为良性肿瘤，与活检结果一致。冰冻切片病理检查全过程约 30 分钟。

实例 2

同实施例 1，区别在于红外光谱检测装置采用的试样装置为光纤 ATR 平台，如图 3 所示，晶体探头 12 为由 $30\sim 75^\circ$ 的 Ge、ZnSe 或 KRS-5 材料构成的圆锥体或角体，有两个取样点，以提高信号强度；光纤 13 为中空的中红外光纤，内径为 $1\text{mm}\sim 5\text{mm}$ ，光纤内壁涂有金、金属卤化物（如 AgCl）、金属硫化物（如金属硫化铜）等物质，光纤的通光范围为 $2.5\mu\text{m}\sim 25\mu\text{m}$ ；光纤接口 14 为用高透过率中红外材料制成的球形聚光镜和扩束镜或平面镜；光纤与光学系统间的耦合件由 BaF_2 、 CaF_2 、ZnSe 或 KRS-5 等材料制成。

采用上述装置，获得口腔腮腺正常组织和癌变组织的中红外光纤光谱，可观察到明显的差别，如图 6 所示。正常组织光谱图 a 可观察到明显的 CH 伸缩振动谱带（ $2800\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ ）和 1746 cm^{-1} 峰强度都很高；而恶性肿瘤组织的光谱图 b 相应谱带的峰强度都很低。

实例 3

同实施例 1 的方法和装置，手术后离体肠道组织样品，分别进行中红外光谱

测定, 得到正常直肠和直肠癌的光谱图 7 (a) 和图 7 (b)。离体的直肠癌组织光谱与正常直肠组织光谱的比较:

从图 7(b)可以看到与核酸有关的 1082 cm^{-1} 处相对峰强度比图 7(b)中 1086 cm^{-1} 明显增多, 与基于生物学认识的癌组织中细胞增殖活跃、核酸增多观点相吻合。

实例 4

同实施例 1, 区别在于红外光谱检测装置采用的试样装置为发射光纤探头装置, 如图 4 所示, 采集组织试样发射信息的探头由光纤探头和黑体辐射源组成。中红外光纤 18 为中空, 直径 $1\sim 5\text{ mm}$, 内壁镀有金、金属卤化物、金属硫化物等物质, 通光范围为 $2.5\mu\text{m}\sim 25\mu\text{m}$; 光纤探头 17 和光纤接口 19 分别为用中红外高透过率的材料 BaF_2 、 CaF_2 或 ZnSe 制成的聚光镜和扩束镜或平面镜。黑体辐射源 22 为用石墨等黑体材料制成, 用恒定电流控制其温度的装置。

如图 8 所示, 采用上述装置获得甲状腺正常组织光谱 a 和肿瘤组织光谱 b, 可以发现: 在 $1000\sim 1300\text{ cm}^{-1}$ 谱带与 $1400\sim 1460\text{ cm}^{-1}$ 谱带相对峰强度比在正常组织光谱图 a 中接近于 1, 而在光谱图 b 中的吸收峰较弱, 相对强度比小于 1。

实例 5

同实施例 1 的方法和装置, 获得正常食道组织和食道癌组织的光谱。如图 9 所示, 正常食道组织光谱图 a 与食道癌组织光谱图 b 比较: 在 CH 伸缩振动谱带 ($2800\sim 3000\text{ cm}^{-1}$), 图 a 可见吸收峰, 而图 b 看不到; 图 a 的 1240 cm^{-1} 处磷酸二酯键的对称伸缩振动明显, 而图 b 此处较弱。

实例 6

同实施例 1 的方法和装置, 获得离体肺组织的光谱, 图 10 列出了正常肺组织和肺癌组织的红外光谱。正常肺组织光谱图 a 与肺癌组织光谱图 b 比较: 在图 a 中酰胺 II 带 1549 cm^{-1} 较强, 而在图 b 中明显减弱; 在正常组织中酰胺 I 带峰位 1644 cm^{-1} , 而在癌组织中为 1640 cm^{-1} 。

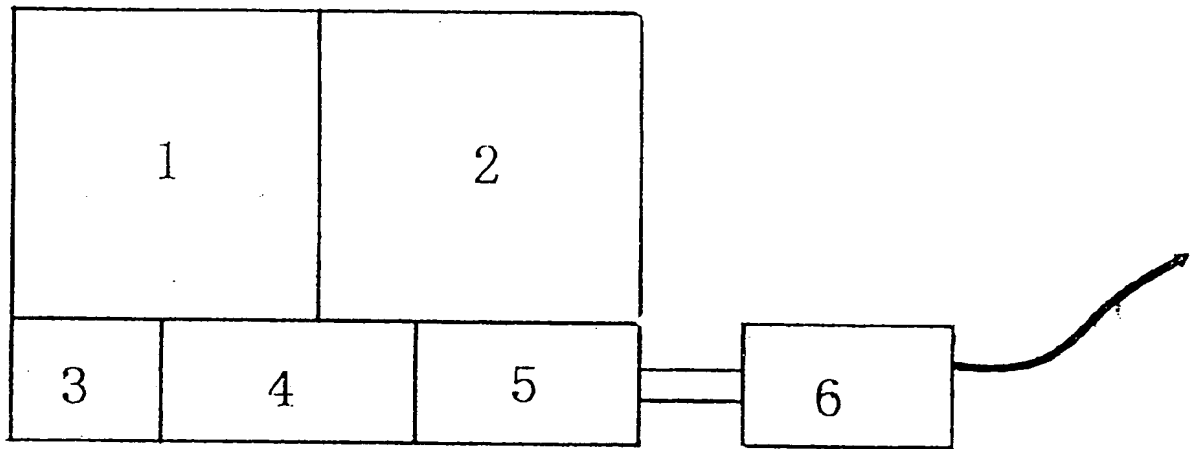


图 1

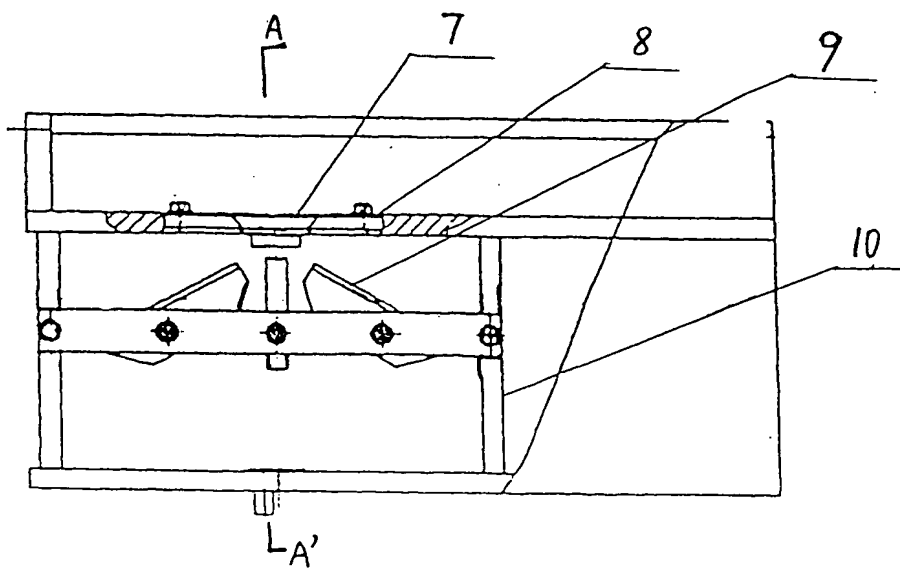


图 2(a)

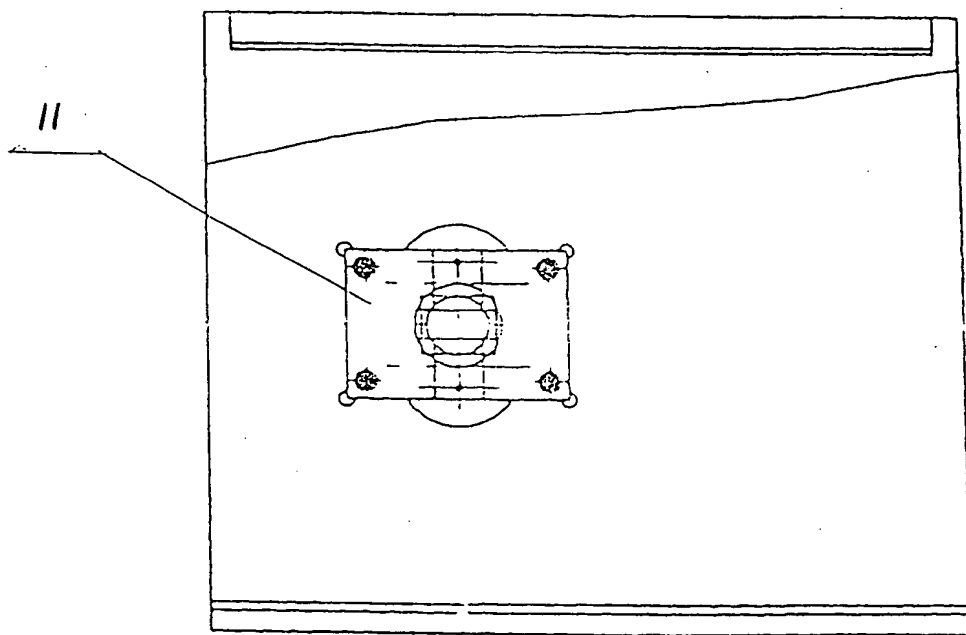


图 2(b)

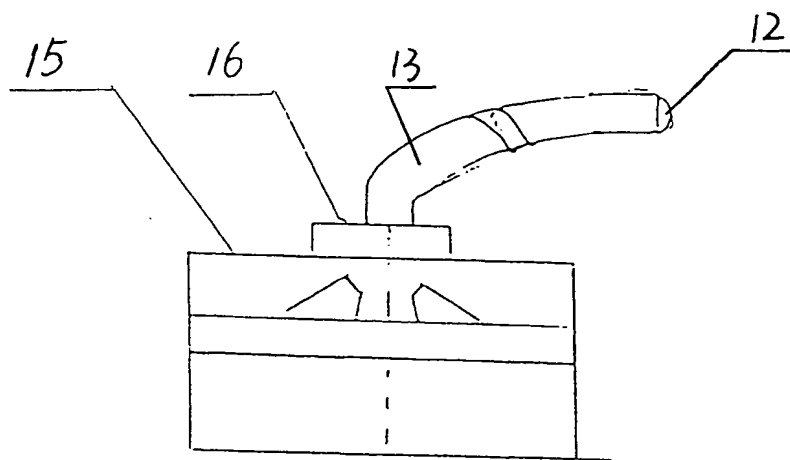


图3(a)

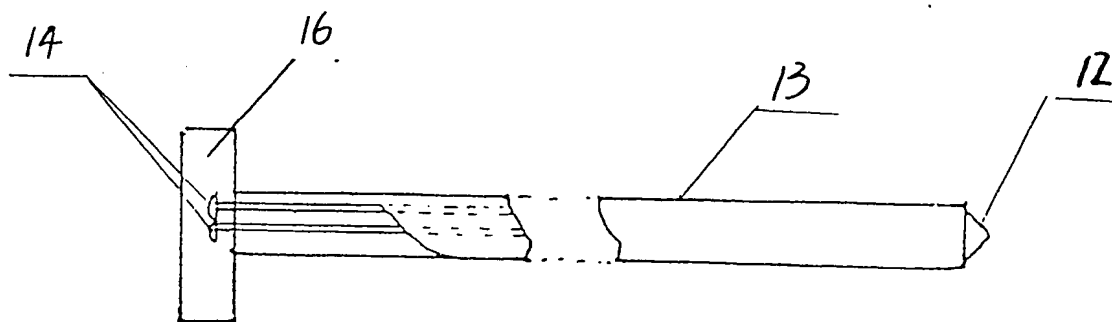


图3(b)

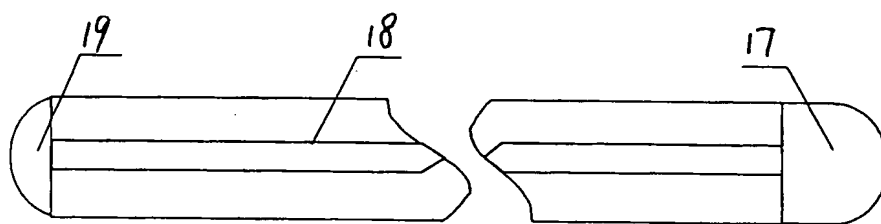


图4(a)

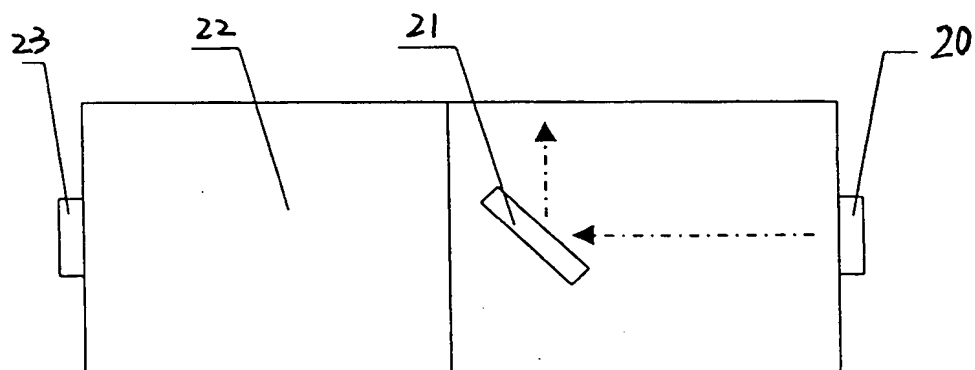


图4(b)

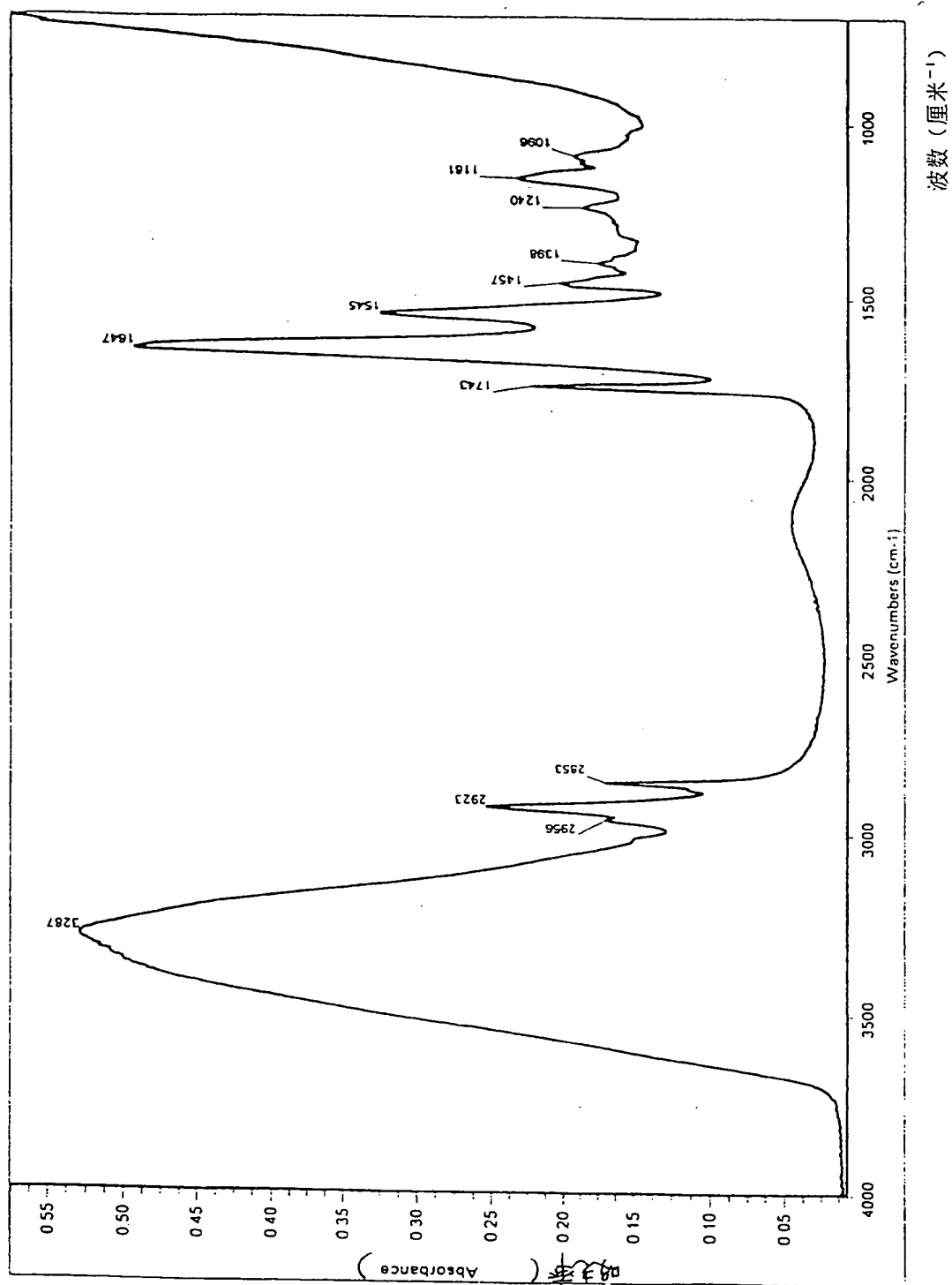


图 5

波数 (厘米⁻¹)

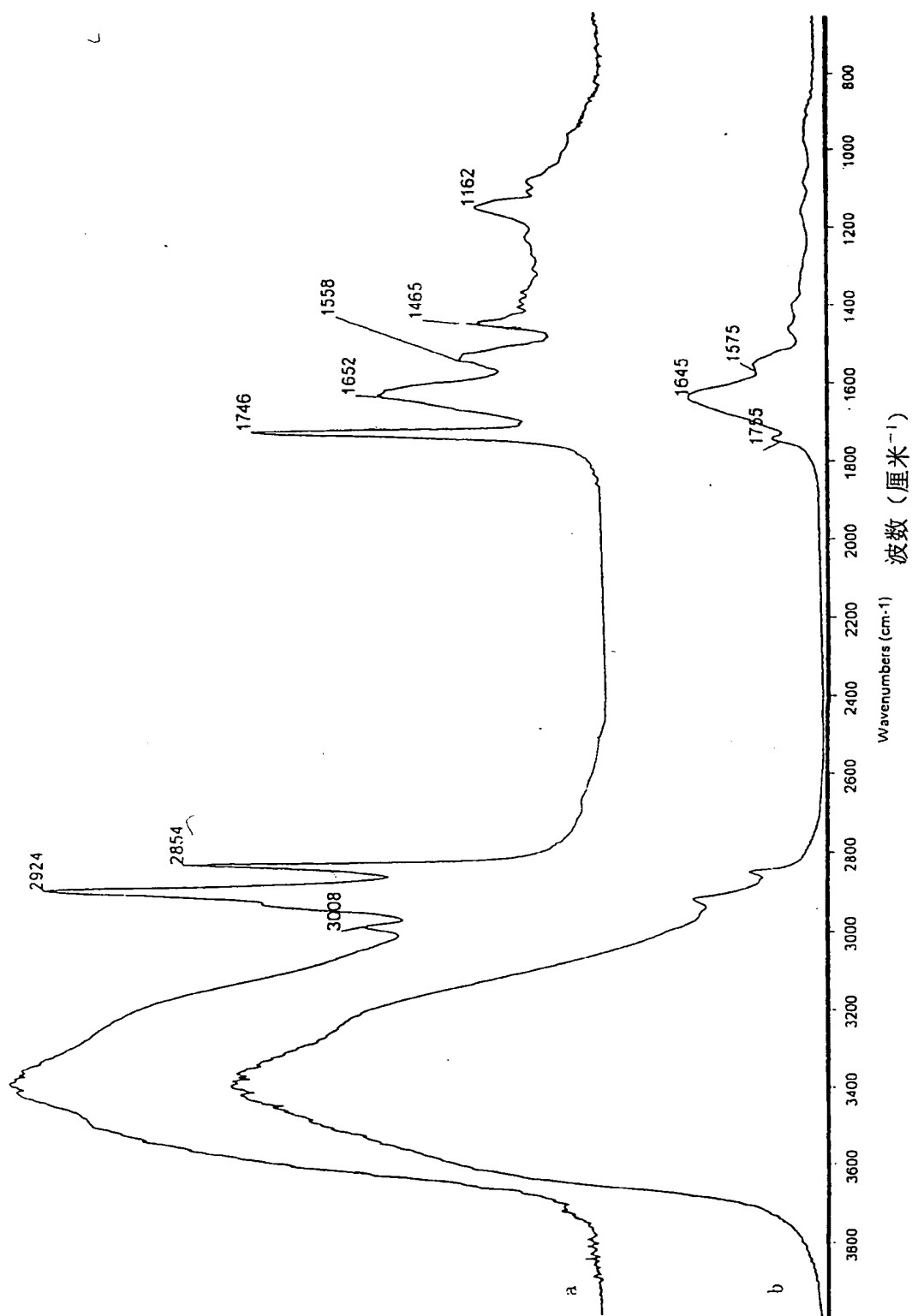


图 6

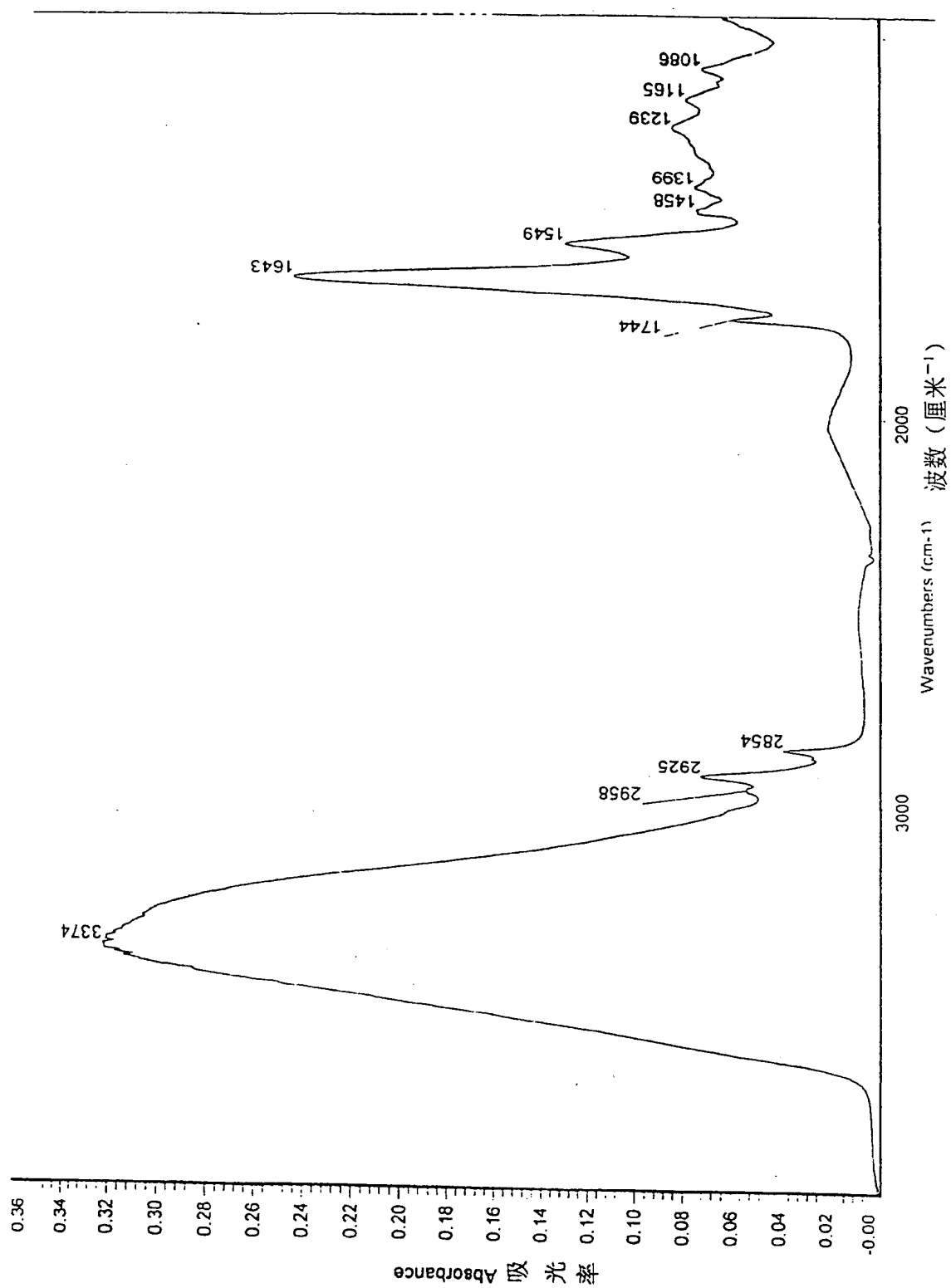


图 7 (a)

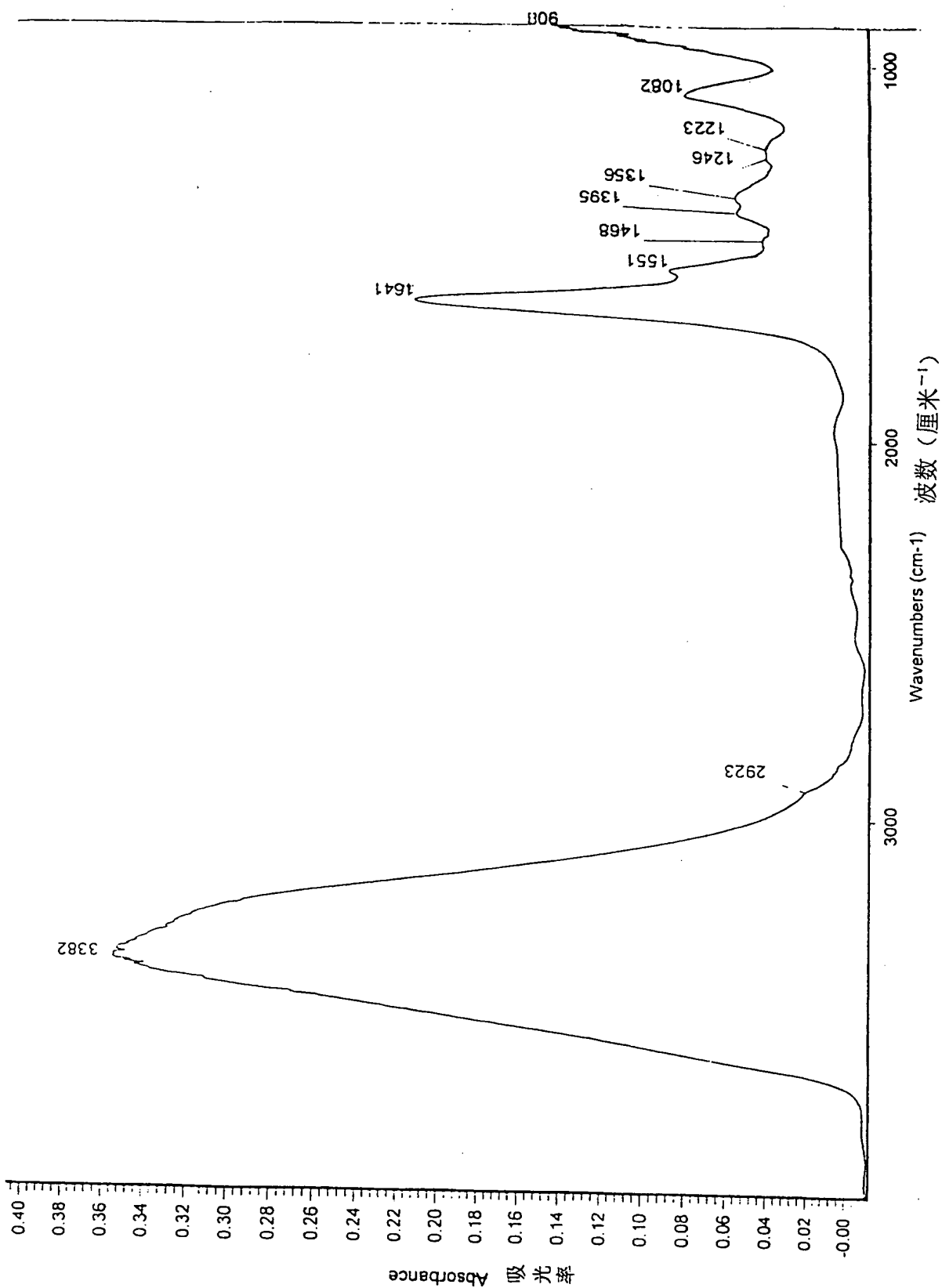


图 7 (b)

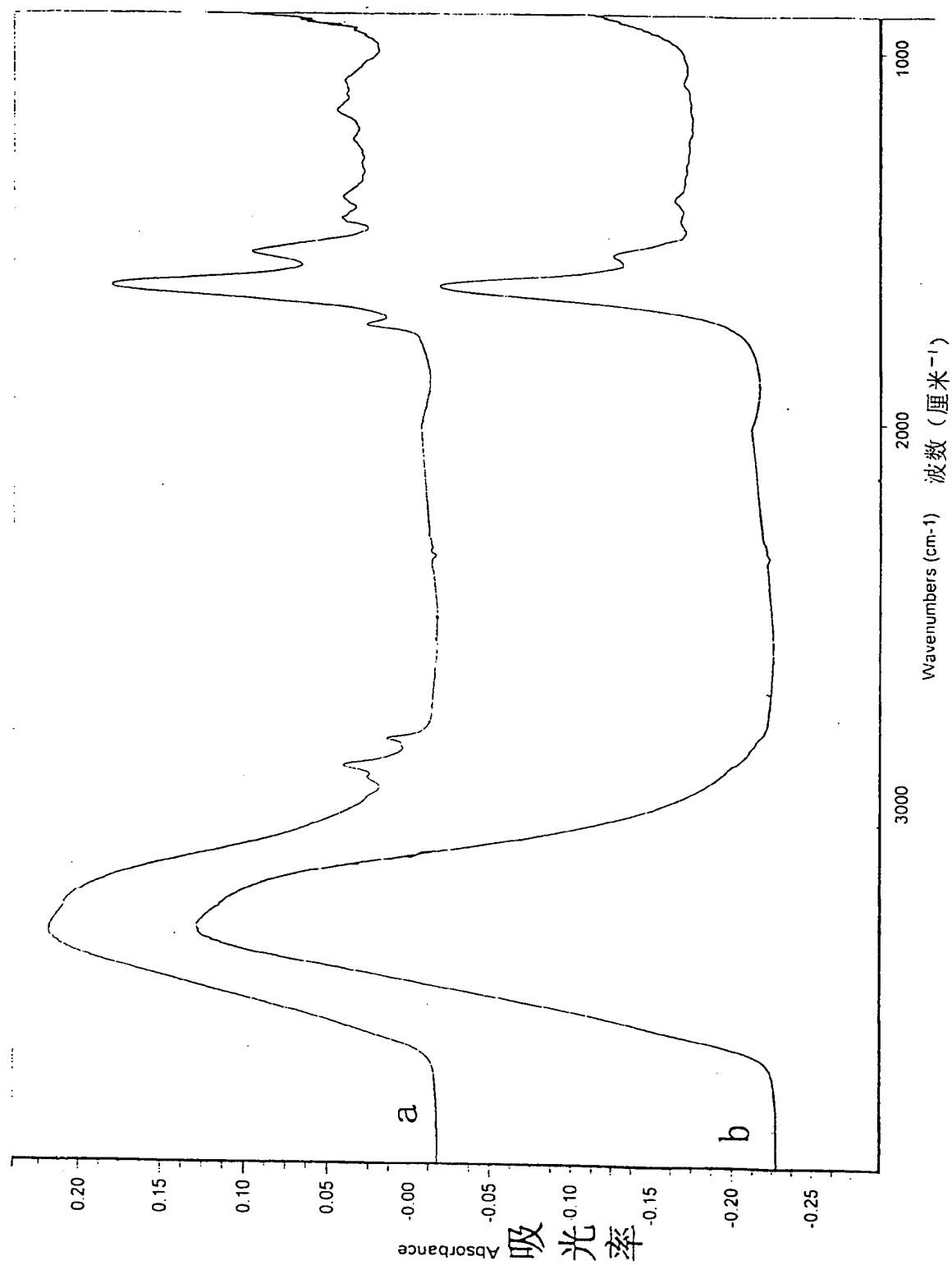


图 8

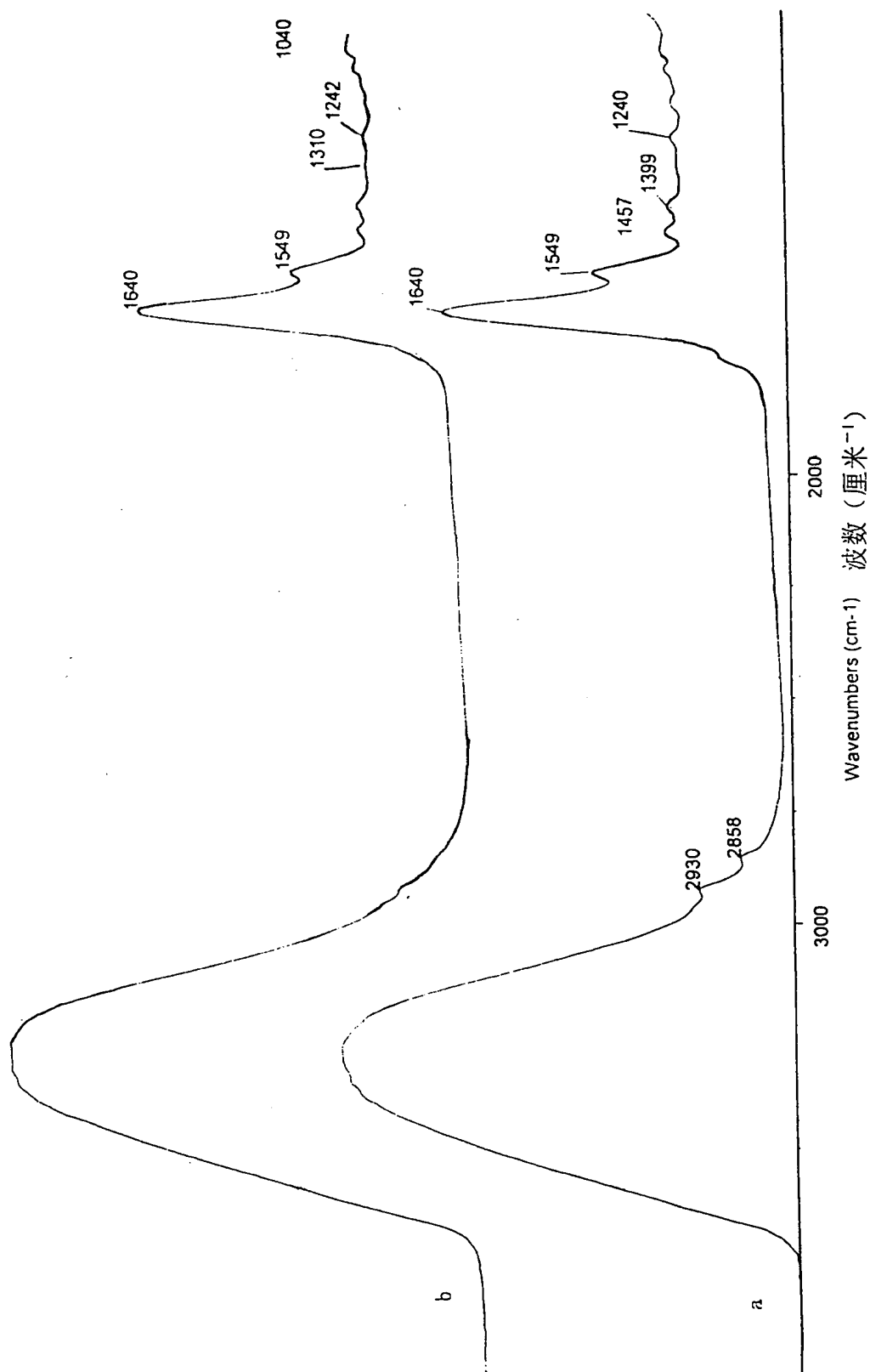
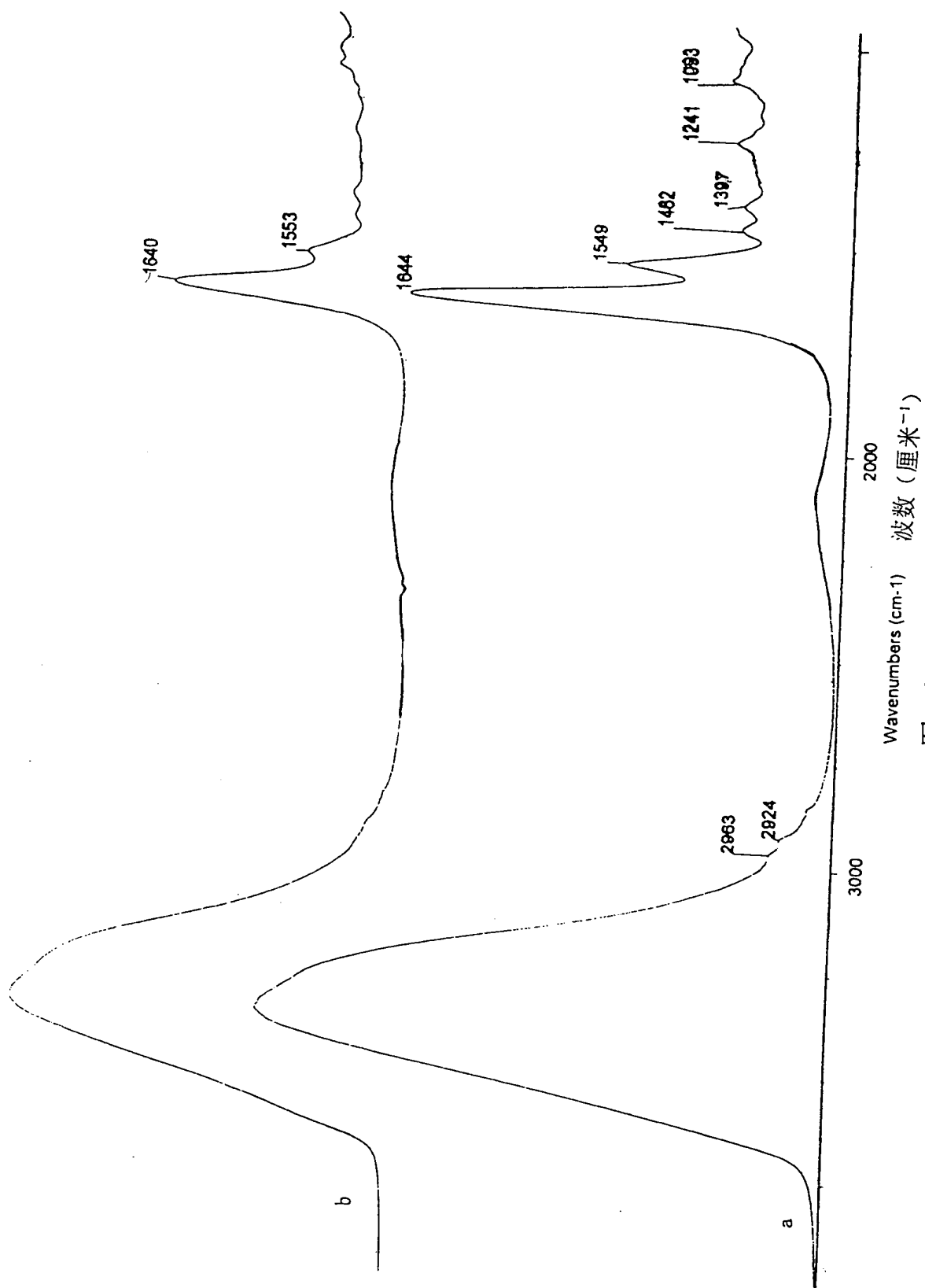


图 9



Wavenumbers (cm⁻¹) 波数 (厘米⁻¹)

图 10